環境因子對 HN 501 藍綠藻生長的影響[1]

簡宣裕　林錫錦[2]

摘要：本試驗目的在探討溫度、pH、照度等生理因子及氮肥形態、微量元素對 HN 501固氮藍綠藻生長之影響。試驗結果顯示此株固氮藍綠藻生長合適溫度為 30°C 至 35°C，低於 30°C時生長趨勢迅速減小。pH 8 時此株藻產量最高，低於 pH 7 則生長不易，而在 pH 3 時完全不能生存。照度 5,000Lux 以下時生長緩慢，最適照度為 7,000Lux 至 9,000Lux。氮肥以硝酸態氮比銨態氮較容易被此株藻吸收利用，硝酸鹽濃度 1 mM 時較適合藻的生長需要，銨鹽濃度為 5mM 時便會抑制藻的生長。若不添加氮營養分於培養液中雖然藻還可生存，但是生長情形不好。缺乏硼、錳、鈷、銅、鋅、鉬中任何一種微量元素及鐵，則此株藻完全不能生長，但培養液用自來水配製，不需添加微量元素及鐵，此藻也能繁殖良好。藻生長初期由外界水溶液吸收氮源，固氮活性小，待異型細胞出現頻率較大時，此株藻固氮活性才會激增。

本試驗室曾觀察比較 10 株固氮藍綠藻與化學氮肥對水稻生長之影響，發現其中一株固氮藍綠藻 HN 501 品系在盆栽水稻各生長階段能提供部分氮肥之肥效 (1)。故擬加以探討外界生理因子對此藻之影響，或許能利用來提高此藻特性以減少水田氮肥使用量，節省生產成本及水源品質之維護。

材料與方法

將固氮藍綠藻 HN 501 接種於表 1 培養基中進行下列試驗：

表 1.　藍綠藻培養基(5)

化　合　物	量　(g/liter)
$NaNO_3$	1.5
K_2HPO_4	0.04
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.075
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.036
Citric acid	0.006
Ferric ammonium citrate	0.006
EDTA (disodium magnesium salt)	0.001
Na_2CO_3	0.02
Trace-metal mix[a]	1ml/liter

120°C、15磅壓力下殺菌15分鐘後冷卻。

a.　H_3BO_3 2.86g/liter, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 1.81g/liter
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.222g/liter, $NaM_0O_4 \cdot 2H_2O$ 0.39g/liter
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.079g/liter, $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 0.0494g/liter

1.臺灣省農業試驗所　研究報告第 1326 號。
2.本所農化系助理研究員、研究員。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。

一、溫度對固氮藍綠藻生長的影響：

於 15°C、20°C、25°C、30°C、35°C 五種溫度處理下，三重複在7,000 Lux照度培養於1,000ml 燒杯中。

二、pH 對固氮藍綠藻生長的影響：

將培養液之酸碱度調至 pH 3、4、5、6、7、8、9，計七處理，三重複，於 1,000ml 燒杯中培養藻，在溫室進行。

三、照度（Lux）對固氮藍綠藻之影響：

固氮藍綠藻接種於培養基後置於1,000、3,000、5,000、7,000、9,000 Lux 照度下培養。三重複於 440 cm^2 盆中生長。

四、培養基中不同氮源及濃度對於固氮藍綠藻的影響：

此試驗培養基除氮源濃度、氮源不同於表 1 外，其他培養基成分皆與表 1 相同。試驗處理如下：

氮源及氮源濃度：

a. 0.5mM $NaNO_3$
b. 1mM $NaNO_3$
c. 5mM $NaNO_3$
d. 10mM $NaNO_3$
e. 0.5mM NH_4Cl
f. 1mM NH_4Cl
g. 5mM NH_4Cl
h. 10mM NH_4Cl
i. −N（不加氮源於培養基中）

各處理三重複，於 7,000Lux、30°C 下培養藻。

五、鐵及微量元素硼、鉬、錳、鈷、銅、鋅對固氮藍綠藻影響：

於培養基中不添加鐵及微量元素，觀察藻的生長情形。

六、HN 501 固氮藍綠藻之生長與固氮活性、水溶液氮濃度變化的關係：

藻 0.9cm^2 接種於 250ml 三角瓶中，內含 150ml 培養基，於適當時間測定三角瓶內之固氮活性，及取水樣品測定水溶液中氮濃度。並觀察藻長滿三角瓶水平面所需之時間及藻生長過程中外觀形態變化及異型細胞（Heterocyst）出現的比例。

七、水溶液中氮濃度測定：

5ml 水溶液樣品加 0.1ml 濃硫酸，煮沸至無白煙出現於分解瓶中，稀釋成 50ml，取定量體積樣品以擴散法測定全氮量。

1.固氮活性測定：

含固氮藍綠藻之三角瓶，用血清塞塞住，瓶內換入12%乙炔，經 1 小時後抽取瓶內 1ml 氣體用氣相色層分析儀測量整個瓶內藻的固氮活性。

九、異型細胞觀察：

於顯微鏡放大400倍下，測定異型細胞與正常細胞。

結果與討論

一、溫度對 HN 501 固氮藍綠藻的影響：

固氮藍綠藻於不同溫度下培養10天後，其結果為生長於 15°C 至 20°C 時比較不合適，於 30°C 至 35°C 最有利此藻繁衍（圖 1）。可見此株藻對溫度的適應性，以夏季型高溫氣候較能適應，而以春冬溫度較低氣候不合適藻的生長[4]。

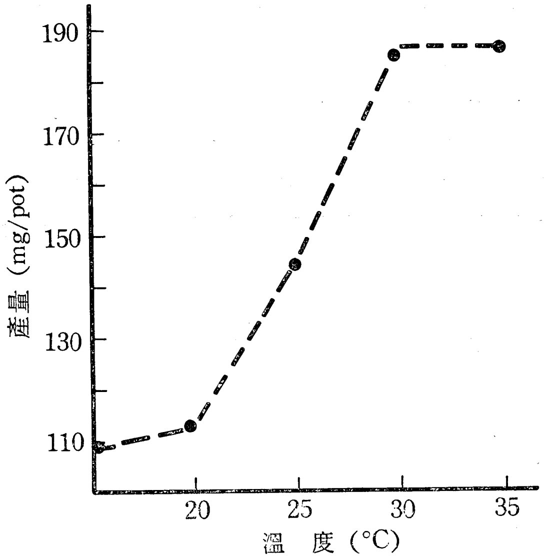

圖1. 溫度對 HN 501 固氮藍綠藻生長的影響

二、pH 對 HN 501 固氮藍綠藻的影響：

培養液中酸碱度低於 pH 7 時此株藻生長受到抑制，此時藻株顏色由原來之綠色變成黃綠色、黃色，pH 低於 3 以下之酸性培養液，此株藻完全不能生存，培養液之 pH 介於 8 至 9 之間最合適此藻生長（圖 2）。臺灣一般水田土壤水溶液 pH 低於 7 以下，不適合此株藻的生殖，只有加入適當量

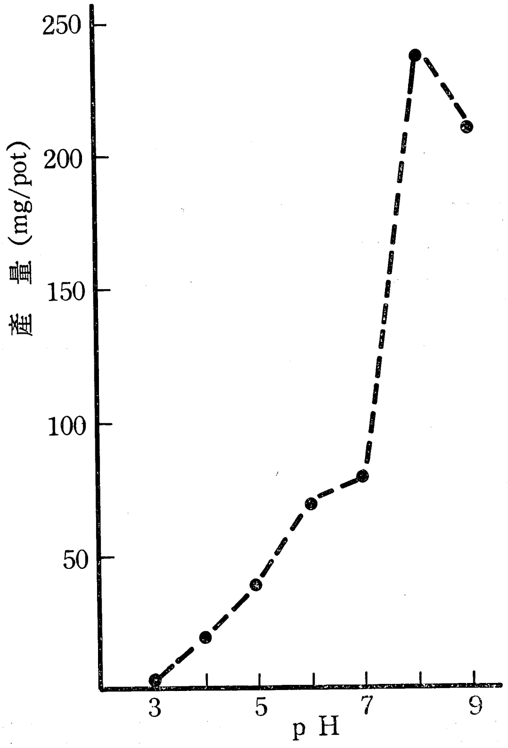

圖2. pH 對 HN 501 固氮藍綠藻生長的影響

之碳酸鈣或其他石灰性物質於水田中以提高 pH 值，才能提供 HN 501 藻株較適合的生存環境，使藻族羣能茂盛的生長。

三、照度對 HN 501 固氮藍綠藻的影響：

固氮藍綠藻接種於培養基後，放置在 1,000、3,000、5,000、7,000、9,000 Lux 照度下培養後，可得知 1,000 Lux 至 5,000 Lux 低照光度時生長緩慢，當照度超過 5,500 Lux 則藻的生長勢顯著地增加，而於 7,000 Lux 至 9,000 Lux 時達到最高點（圖3）。由溫度、pH、照度之試驗結果可知此株固氮藍綠藻生長最適環境條件是溫度 30°C 至 35°C、pH 介於8至9之間、照度 7,000 Lux 至 9,000 Lux。

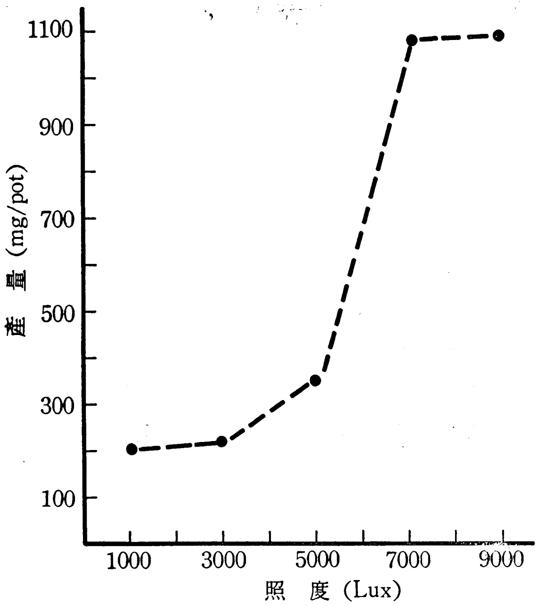

圖3. 照度對 HN 501 固氮藍綠藻的影響

四、氮源、氮源濃度與 HN 501 固氮藍綠藻生長的關係：

此株藻對於硝酸態氮較喜歡，銨態氮則有抑制生長的情形。5mM 硝酸態氮時可得到較高藻產量，當銨態氮濃度爲 10mM 則此藻便完全沒有生存的機會了（表2）。雖然此株藻可由空氣中固定氮素維持生命狀態，但藻族羣生長不旺盛，故添加外來之化學氮源於培養液中，可有效地促進藻族羣的繁衍[2,3]。

表2. 氮源及氮源濃度對 HN 501 固氮藍綠藻產量的影響（mg/pot）。

濃度	硝酸態氮	銨態氮	L. S. D. 5 %	L. S. D. 1 %
0.5mM	183	61	6	13
1mM	203	60	17	40
5mM	227	32	38	87
10mM	225	0	33	76

五、缺乏微量元素對 HN 501 固氮藍綠藻生長的影響：

此株藻缺乏鐵、鈷、鉬、錳、硼、銅、鋅中任何一種元素，則完全不能繁殖。但培養液用自來水或地下水配製時，在沒有加入微量元素的情況下仍然可以使此株藻正常的生長。故由此可知本省大部分灌溉水中及土壤之微量元素含量，足以供給此株藻生長發育，藻生長於水田中而缺乏微量元素的可能性是很小。

六、HN 501 固氮藍綠藻之生長與固氮活性、水溶液中氮濃度之關係：

固氮藍綠藻 0.9cm² 接種於 250ml 三角瓶內，水平面面積為 30.9cm²，經過84小時後，藻便可長滿整個水平面。故可估計此株藻在環境條件良好情況下，每隔16.5小時便可以增長1倍。由圖4知

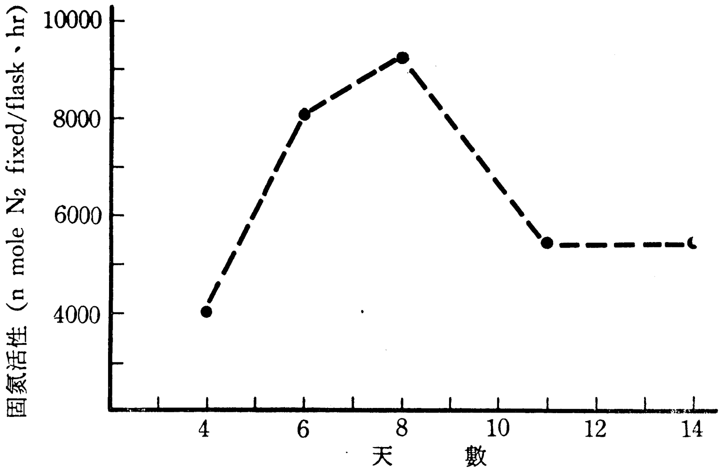

圖4. HN 501 固氮藍綠藻生長期間固氮活性

道藻生長4天後，整瓶藻的固氮活性只有4,070 n mole N_2 fixed/flask、hr，此時藻剛長滿三角瓶水平面，藻取樣於顯微鏡下觀察，幾乎沒有異型細胞（圖5）出現，水溶液中氮濃度由原來之 2.5mM

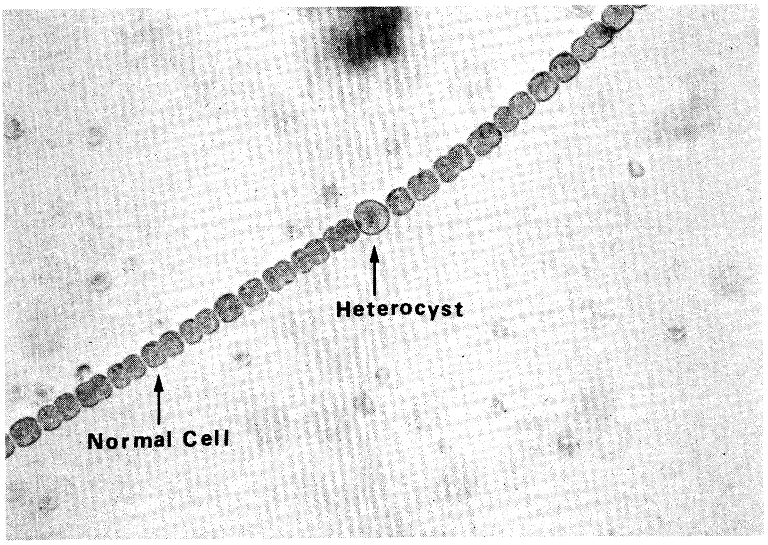

圖5. HN 501 固氮藍綠藻異型細胞

表3. 培養液中氮濃度變化

天數		氮濃度 (mole/l)
原	液	2.5
4	天	2.1
6	天	1.3

減少變爲2.1mM（表3）。藻生長至第6天時整瓶固氮藍綠藻固氮活性增至8,100 n mole N_2 fixed/flask、hr，水溶液氮濃度爲 1.3mM，異型細胞出現之頻率爲7.9%，至第8天時，瓶內藻之固氮活性最高可達 9,200 n mole N_2 fixed/flask、hr，於第11天時固氮活性迅速減少只有 5,364 ń mole N_2 fixed/flask、hr。此藻生長特性，由試驗結果可知道當藻長滿水面時，藻的增長便停止，然後經過5天後藻便迅速老化，開始有部分藻下沉於盆底的現象。故可確知此藻於增殖生長期的時候由外界水溶液中吸收氮素養分量比所釋放出之有機態氮 [6] 量多，此時異型細胞少，固氮活性小，待增殖生長期完成後，異型細胞出現較多時，固氮活性可以激增，當藻老化分解後才可能釋出有效量氮養分供給作物利用。

六、參考文獻：

1. 林錫錦、簡宜裕・1983・固氮藍綠藻對水稻生長之影響。七十二年度農林廳各試驗場所試驗研究報告。Page：314-324。
2. Huang T. C., Establishment of nitrogen-fixing blue-green algae in the rice field. Proceedings of ROC-Japan seminar on promoting nitrogen fixation in agriculture. Page：67-73.
3. John C. M., coff, John S. C., and C. S. Enderlin. 1983. Regulation of expression of nitrate and dintrogen assimilation by Anabaena species. Applied and environmental microbiology. 45(4)：1351-1359.
4. Roger P. A., and S. A. Kulasooriya. 1980. Blue-green algae and rice. The internationtal rice research institute. LosBaos, philippines.
5. Stainer R. Y., Kunisawa R., Mandel M., and G. Cohen-Bazire. 1971. Purification and properties of unicellular blue-green algae. American soci. of microbiology. 35：171-205.
6. Willian D. P. Stewart. 1966. Nitrogen fixtion in plants. Lecturer in Botany at Westfield College, university of London. Page：65-66.

The Effect of Environmental Factors on the Growth of HN 501 Blue-Green Algae

S. Y. Jean and C. J. Lin

Summary

The purpose of the experiment was to investigate the effect of temperature、pH、light intensity on the growth of HN 501 blue green algae. We also studied nitrogen source、nitrogen concentration and microelement affecting the growth of the algae.

The results showed that suitable conditions for the algae growing were as the followings: 1. temperature was between 30°C and 35°C 2. pH was above 7.0 and below 9.0 3. light intensity was bounded in 7,000 Lux to 9,000 Lux interval. Nitrate was more accepted by the algae than ammonium. If ammonium concentration was above 5 mM or the solution lacked of one of B. Mn. Mo. Co. Cu. Zn microelement and Fe, the growth of the algae would be inhibited. The doubling time of the algae was 16.5hr.

During the early growing stage, the algae absorbed more nitrogen quantity than released and the nitrogenase activity of the algae was weak. When more heterocyst frequency appeared, the nitrogenase activity of the algae could rise abruptly.